УДК 591.439:591.345:595.799

Е. А. Сапаев

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЖИРОВОГО ТЕЛА ПРЕДКУКОЛКИ MEGACHILE CENTUNCULARIS

В последние годы в связи с необходимостью повышения урожайности семян люцерны в ряде районов нашей страны делаются попытки искусственного разведения некоторых видов ее опылителей и, в частности *Megachile centuncularis* L. (Зинченко и др., 1980; Барабанщиков и др., 1983). Внешняя морфология стадии предкуколки этого вида описана Л. П. Ромасенко (1983), однако работы по гистологической, а тем более ультраструктурной организации преимагинальных стадий мегахилид, кроме исследования развития сложного глаза в онтогенезе *Megachile rotundata* F. (Wahmann, Hennig, 1974), нам не известны. В то же время в связи с искусственным разведением вида знание цитологического строения объекта представляется необходимым.

Цель настоящей работы — изучить строение жирового тела диапаузирующих предкуколок *M. centuncularis* на оптическом и электронномикроскопическом уровнях и сравнить полученные результаты с данными о состоянии и изменениях ткани жирового тела при развитии медоносной пчелы (Snodgrass, 1956).

Материал и методика. Для исследования было использовано 10 домиков-чурбаков, расставленных летом 1982 г. на сменном посеве люцерны одного из колхозов Западного Предкамья Татарской АССР. В ноябре — декабре вскрывали каналы в домиках, предварительно две недели хранившихся при комнатной температуре. Использовали только предкуколок, лежащих в коконе головой к отверстию канала; при этом тщательно следили, чтобы не попали предкуколки целиоксов (*C. inermis* Kby, *C. elongata* Lep.), которые отличаются более сильным развитием нижней части головы (Baker, 1971).

Для изучения тонкого строения предкуколок *M. centuncularis* нарезали на кусочки 1,5—2 мм^3. Материал фиксировали 24—30 ч 0,5 %-ным глутаральдегидом на 0,1 *M* какодилатном буфере (pH — 7,5) при +4° С. Затем кусочки промывали в 0,1 *M* буфере с сахарозой, дофиксировали 1,5 ч 1 %-ном O_sO_4 на том же буфере и заливали в Эпон-812. Полутонкие (1—2 мкм) и тонкие (40—80 нм) срезы получали на ультрамикротоме УМТП-3. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим (Philpott, 1966) и просматривали под световым микроскопом. Тонкие срезы контрастировали уранилацетатом, а затем цитратом свинца (Venable, Coggeshall, 1965) и просматривали под электронным микроскопом «Tesla BS-500».

Для получения обзорных картин несколько предкуколок зафиксировали нейтральным формалином и залили в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином по Гейденгайну, галлоцианином и на ДНК по Фельгену (Луппа, 1980). Размеры клеток, ядер и гранул измеряли с помощью окуляр-микрометра МОВ-1-15 *. В каждом случае было сделано по 100 замеров.

Результаты и обсуждение. У личинок медоносной пчелы жировое тело располагается дорсально над средней кишкой в 5—6 брюшных сегментах; с возрастом личинки оно увеличивается в размерах (Snodgrass, 1956; Таранов, 1968). Как показано для другого вида мегахилы — *M. rotundata* F., жировое тело закладывается сегментарно и впервые четко заметно у личинки 2 возраста; к 5 возрасту оно уже полностью сформировано (Moore et all, 1972). Жировое тело служит резервуаром питательных веществ, используемых в процессах гистогенеза при дальнейшем метаморфозе насекомого; при этом происходит не просто хранение, но и переработка их в более легко усвояемую форму. Таким образом, жировое тело работает по принципу железы (Bishop, 1958). У личинки *M. centuncularis* последнего 5 возраста жировое тело занимает практически все пространство между органами. Личинка превращается в предкуколку без линьки: она опорожняет свой кишечник, окружается коконом и теряет подвижность. Последним ее движением бывает переворот головой к выходу из канала. С этого момента предкуколка приступает к диапаузе. В лабораторных условиях развитие предкуколки занимает 7—13 дней (Ромасенко, 1983). Неподвижная предкуколка представляет собой как бы «мешок с клетками» жирового тела. Личиночные

органы лизируются. Вне головной капсулы остается только участок средней кишки и имагинальные диски конечностей. В жировом теле личинок и предкуколок медоносной пчелы Р. Е. Снодгресс (Snodgrass, 1956) описывает три типа клеток: жировые клетки, эноциты и мочевые клетки. В туловищном отделе предкуколки мегахилы также наблюдается три типа клеток, однако мочевых (urate) клеток, как их описывает Снодгресс, мы не обнаружили.

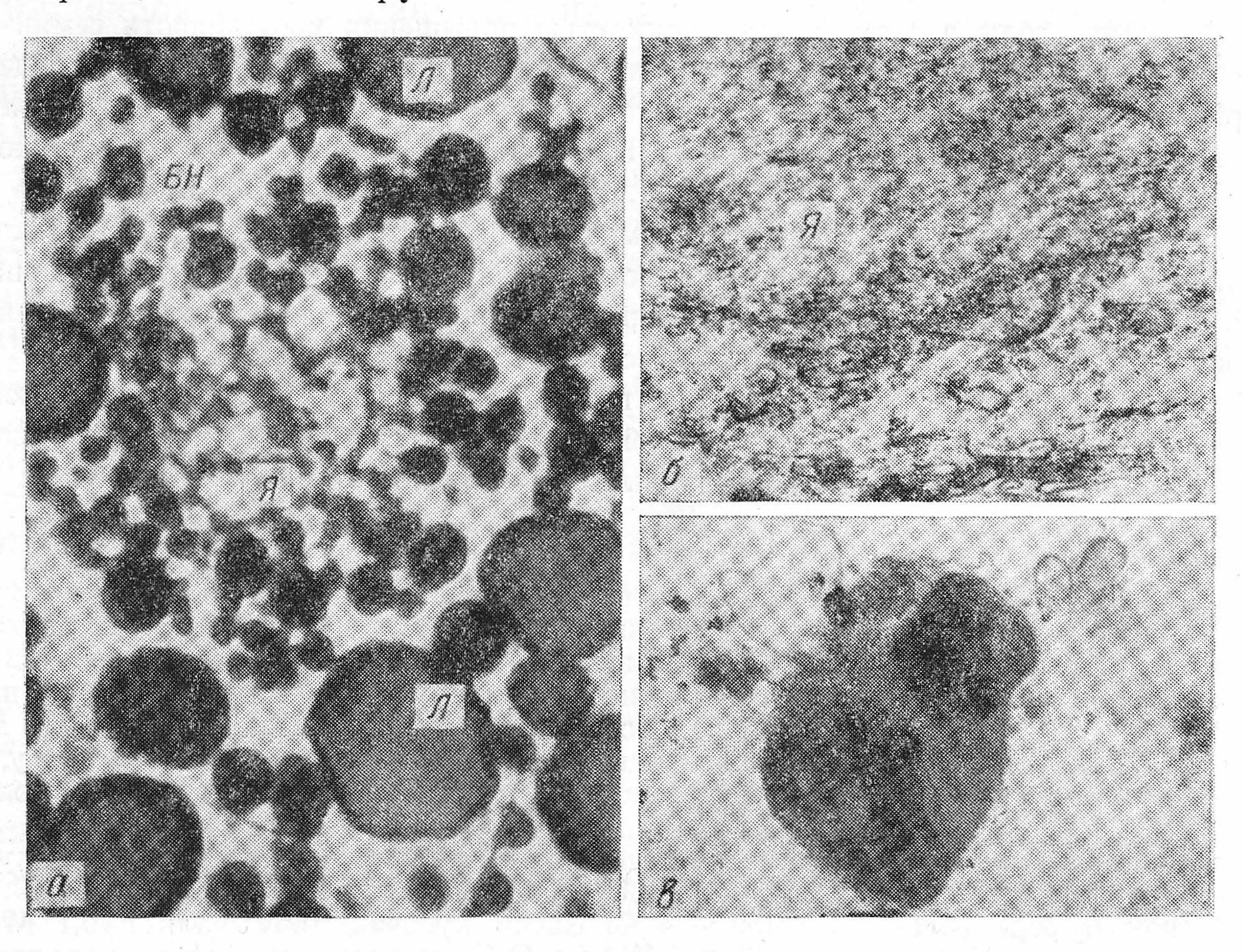


Рис. 1. Жировые клетки:
а — приядерный участок разрушающейся клетки, видны белково-нуклеиновые гранулы (БН) и липидные капли (Л); полутонкий срез, ×1164; *б* — ядро (Я) жировой клетки под электронным микроскопом, ×13800; *в* — белково-нуклеиновая гранула, ×12070.

Ж и р о в ы е к л е т к и (т р о ф о ц и т ы). Это крупные, диаметром 95,1±2,7 мкм (мин. 32,4; макс. 178,2) клетки, функционирующие у личинки и на стадии предкуколки подвергающиеся дегенерации. Они выполняют функцию запасания питательных веществ, которые используются на стадии куколки в процессе гистогенеза дифинитивных тканей, в частности при построении грудных мышц (Oertel, 1930), и для поддержания жизни насекомого во время диапаузы. Цитоплазма жировых клеток не окрашивается красителями и электроннопрозрачна; ядерно-цитоплазматические отношения чрезвычайно малы. Ядра неправильной формы, средний их диаметр 18,6—0,8 мкм (макс. 39,4). В процессе разрушения ядер хромосомный материал из них выбрасывается в цитоплазму в виде белково-нуклеиновых гранул (рис. 1, *а*), а сами ядра сморщиваются, и клетки отмирают. Гранулы используются как питательный материал другими клетками. Под электронным микроскопом в ядрах отмечается нежная зернистость, диаметр точек 30—35 нм (рис. 1, *б*).

В цитоплазме жировых клеток видны отдельные крупные гранулы гликогена и окруженные мембраной липидные капли диаметром 10,6±±0,5 мкм (макс. 25,2). Многочисленные белково-нуклеиновые гранулы хорошо окрашиваются по Фельгену и обычно сосредоточены вокруг остатков ядра. Они окружены мембраной, местами двойной; имеют размеры от нескольких нанометров до 14 мкм (средний диаметр 4,3—0,2 мкм); внутри некоторых из них просматриваются глыбки хроматина (рис. 1, *в*). Между соседними клетками лежат широкие участки элект-

ронноплотного межклеточного вещества (экстацеллюлярное пространство) толщиной местами до 1,5 мкм, кое-где в них видны мелкие пузырьки и гранулы. В цитоплазме жировых клеток иногда встречаются частично деструктированные митохондрии, многочисленные лизосомы и аутофагосомы. Иногда наблюдаются картины, которые можно интерпретировать как слияние белково-нуклеиновых гранул между собой и с лизосомами.

В. Б. Уигглсуорс (цит. по Snodgrass, 1954) описывает образование «хроматиновых» в его терминологии гранул при гистолизе многих тканей насекомых в результате растворения ядер. Формирование и «онтогенез» белково-нуклеиновых гранул в трофоцитах жирового тела был детально изучен в процессе развития матки медоносной пчелы (Bishop, 1958). На основе обширного материала электронной микроскопии автор приходит к выводу, что они формируются в цитоплазме около ядра, что указывает на их роль в переработке питательных веществ в разрушающейся клетке. Однако еще раньше при изучении развития бракониды Д. Грош (цит. по Bishop, 1958) пришел к заключению, что гранулы содержат материал хроматина ядра и, следовательно, имеют ядерное происхождение. Исходя из наших данных, можно достаточно обоснованно предположить, что они как бы отпочковываются от ядра, оставаясь, наподобие телец Белла, окруженными кариолеммой. В дальнейшем содержимое гранул преобразуется при помощи ферментов лизосом и в конце их жизни, как это наблюдал Бишоп, мембраны разрушаются. К диапаузе процесс формирования белково-нуклеиновых гранул в трофоцитах мегахилы уже, видимо, заканчивается.

К моменту линьки на куколку трофоциты полностью расходуют свое содержимое и погибают. Имагинальные трофоциты медоносной пчелы, как пишет Р. Е. Снодграсс (1954), мельче, чем у предкуколки и представляют собой результат пролиферации отдельных не разрушившихся ларвальных клеток. При изучении срезов торакального отдела предкуколки мегахилы мы не обнаружили трофоцитов, сильно отличающихся по размерам или по степени деструкции от других клеток. В то же время нет оснований полностью отрицать возможность образования имагинального жирового тела в результате пролиферации отдельных, не прошедших цикла развиия трофоцитов.

Э н о ц и т ы. Как по структуре, так и по происхождению, эктодермальные (Oertel, 1930) клетки сильно отличаются от жировых. Они локализуются преимущественно в средней части туловищного отдела предкуколки, имеют овальную форму и нередко отросток, длина которого может достигать 150 мкм. Диаметр тела клетки в среднем 62,2±±2,0 мкм (макс. 120). Среди эноцитов можно выделить живые на вид клетки, а также подвергающиеся разрушению и уже мертвые. Интерес представляют первые, их ядра овальные, средний диаметр 15,3—0,7 мкм (макс. 26,9); обычно просматриваются по два ядрышка. Цитоплазма эноцитов забита округлыми вакуолями с прозрачным содержанием, реже в центре вакуоли имеется темная сердцевина (рис. 2, *а*). Диаметр вакуолей 4,9—0,1 мкм (макс. 8, 9). Под электронным микроскопом кроме крупных вакуолей в цитоплазме видны мелкие цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума, митохондрии с редкими, часто сильно раздутыми кристами, лизосомы и фагосомы (рис. 2, *б*). Между крупными органоидами разбросаны одиночные полисомы. В целом эноциты по своей ультраструктуре сильно напоминают макрофаги высших позвоночных (Карр, 1978) и, несомненно, имеют фагоцитарную активность. Секреторная функция эноцитов (Snodgrass, 1956) также не исключена, однако на стадии предкуколки она явно не выражена. Известно (Snodgrass, 1956), что у медоносных пчел все эноциты преимагинальных фаз развития элиминируются и заменяются новыми за счет миграции мелких эктодермальных клеток из субэпителиального слоя вентральной части тела предкуколки.

Мелкие клетки третьего типа. Это самые мелкие по размерам клеточные элементы жирового тела; средний диаметр их 13,9±±1,4 мкм (макс. 16,4). Как правило, они встречаются группами по 3—5 штук и контактируют друг с другом (рис. 3, *а*); имеют большие значения ядерно-цитоплазматических отношений. Ядра, диаметром до 8—10 мкм, содержат сравнительно мало хроматина, который собран в довольно крупные, прилегающие к капиолемме глыбки. По всем морфологическим и ультраструктурным признакам клеточные элементы третьего

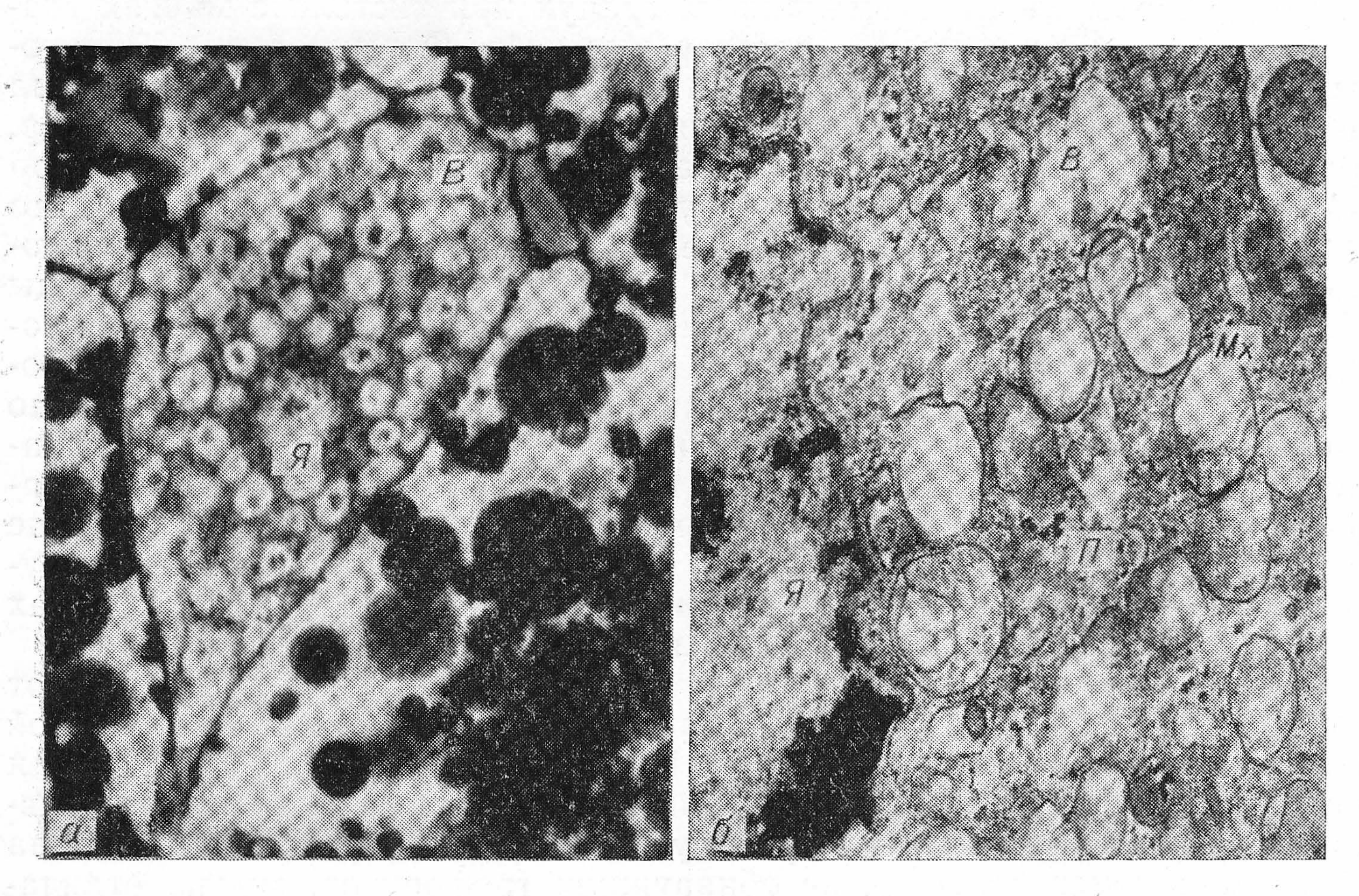


Рис. 2. Эноциты:
а — общий вид на полутонком срезе, ×703; *б* — участок цитоплазмы эноцита, ×12600; Я — ядро; В — вакуоли; Мх — митохондрии; П — полисомы.

типа у мегахилы — это активно функционирующие клетки, имеющие высокий уровень метаболитических процессов. Наличие свободных рибосом и полисом указывает на то, что даже на стадии диапаузы в них происходит синтез белков. В цитоплазме обнаруживаются отдельные каналы и цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 3, *б*), диктиосомы комплекса Гольджи, митохондрии и множество мелких пузырьков наподобие пинацитозных. Встречаются мембранные миелиноподобные тела. Некоторые клетки этого типа по своей морфологии напоминают новую гиподерму, кроме того, их концентрация у стенки тела предкуколки значительно выше, чем в проксимальных областях жирового тела. В некоторых из них имеются крупные вакуоли, что сближает их с мелкими эноцитами (рис. 3, *в*). Более дифференцированные с меньшими ядерно-цитоплазматическими отношениями клетки, как правило, встречаются глубже в ткани жирового тела. Наблюдается постепенный переход от типичного строения малодифференцированных элементов до структуры, характерной для мелких эноцитов, причем разные клетки находятся на разных стадиях дифференцировки. Исходя из распределения клеток третьего типа в жировом теле и их ультраструктуры в глубине органа и ближе к покровам, можно предположить движение их от периферии к центру и параллельную дифференцировку до стадии зрелого эноцита. Таким образом, клетки третьего типа, видимо, являются предшественниками дифинитивных эноцитов куколки и имаго. Косвенным подтверждением этого заключения может быть наблюдение М. Т. Мо-

гилы (1937), который пишет, что у только что вылупившихся медоносных пчел эноциты имеют густо мелкозернистую цитоплазму, интенсивно окрашивающуюся пиронином, что сближает их с клетками третьего типа.

Конечно, предкуколку *Megachile centuncularis* трудно сравнивать с аналогичной стадией развития медоносной пчелы, поскольку стадия диапаузы у мегахилы длится 8—9 мес., а у домашней пчелы всего несколько дней. Однако размеры трофоцитов жирового тела предкукол-

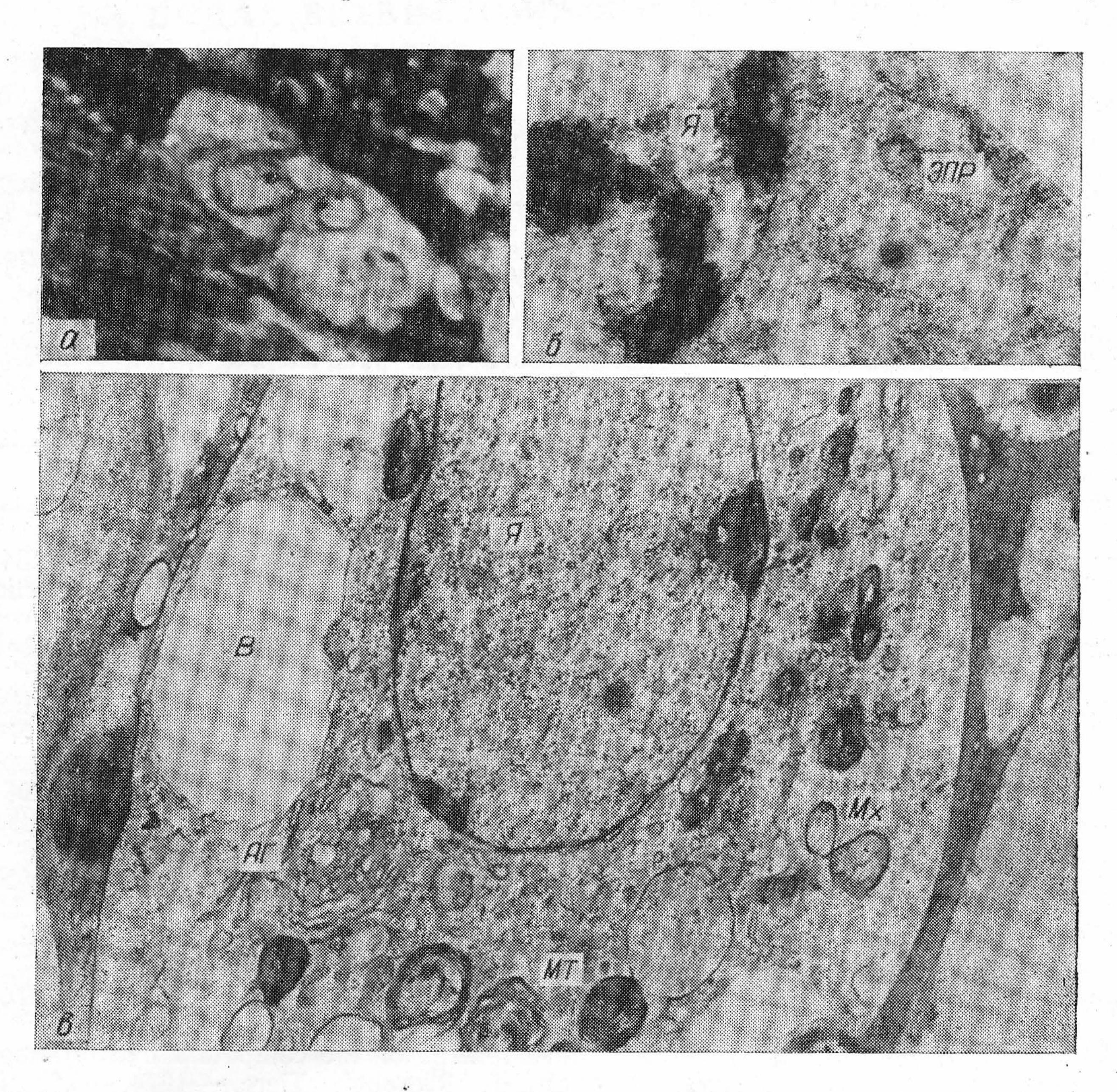


Рис. 3. Мелкие клетки, предшественники эноцитов:
а — общий вид, ×711; *б* — часть среза малодифференцированной клетки, ЭПР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; ×12070; *в* — клетка, похожая на мелкий эноцит, видны широкие экстрацеллюлярные пространства, ×10035; Я — ядро; В — вакуоли; Мх — митохондрии; МТ — миелиноподобные тела; АГ — комплекс Гольджи.

ки мегахилы лишь незначительно отличаются от матки медоносной пчелы на этой стадии: 95,1 против 100 мкм (Bishop, 1958). Строение клеток так же мало отличается от описанной Г. Х. Бишопом (1958) структуры трофоцитов на пятой (предкуколка) стадии развития матки, хотя степень деструкции клеток мегахилы в целом значительно меньше, а строение белково-нуклеиновых гранул соответствует скорее четвертой (последний личиночный возраст) стадии. Характер метаболизма трофоцитов мегахилы, вероятно, таков же, как и у медоносной пчелы, но на время длительной диапаузы клетки как бы «застывают», и процесс обработки в них метаболитов, если и происходит, то чрезвычайно медленно.

Размеры эноцитов предкуколки мегахилы значительно меньше, чем у личинки менодосной пчелы последнего возраста: 62,2±2,0 против 95,8±0,7 мкм (Стекольщиков, 1976). Малые размеры клеток могут быть связаны с меньшим размером предкуколки мегахилы. Однако их строение у предкуколок этих двух пчел на свето-оптическом уровне

практически не различается. Ультраструктурные картины, к сожалению, сравнить не с чем. Работы по цитологическому и ультраструктурному изучению стадий развития пчел-листорезов еще только начинаются и со временем дадут возможность получить новые данные о тонких механизмах метаморфозов этих ценных насекомых-опылителей.

Автор выражает признательность сотруднице Казанского университета З. И. Абрамовой и студентке Л. В. Тураевой за активную помощь при выполнении данной работы.

Барабанщиков Б. И., Стекольщиков М. Г., Сапаев Е. А. Рекомендации по охране и увеличению численности диких пчел-опылителей люцерны в колхозах и совхозах ТАССР.— Казань, 1983.— 20 с.

Зинченко Б. С., Осычнюк А. З., Корбецкая Л. А. К биологии мегахилы — Megachile centuncularis L.— опылителя люцерны // Сельскохозяйственная биология.— 1980.— **15**, № 4.— С. 625—627.

Карр Я. Макрофаги: Обзор ультраструктуры и функции.— М. : Медицина, 1978.— 188 с.

Луппа Х. Основы гистохимии.— М. : Мир, 1980.— 343 с.

Могила М. Т. Возрастные изменения жирового тела рабочей пчелы (Apis mellifera L. и Apis mellifera remiper G.) // Бюл. эксперимент. биологии и медицины.— 1937.— **3**, № 6.— С. 670—676.

Ромасенко Л. П. К изучению биологии Megachile centuncularis. Вестн. зоологии.— 1983. № 4.— С. 31—34.

Стекольщиков М. Г. Цитологические и цитохимические особенности некоторых рас медоносных пчел.— Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1976.— 147 с.

Таранов Г. Ф. Анатомия и физиология медоносных пчел.— М. : Колос, 1968.— 344 с.

Baker J. B. Development and sexual dimorphism of larvae of the bees genus Coelioxys // J. Kansas Entomol. Soc.— 1971.— **44**, N 2.— P. 225—235.

Bishop G. H. Nuclear and cytoplasmic changes in fat body cells of the queen bee during metamorphosis // J. Exptl. Zool.— 1958.— **137**, N 3. P.— 501—525.

Moore J. L., Henry J. E., Smith H. W. Inclusions in the fat body of the alfalfa leafcutter bee Megachile rotundata // Ann. Entomol. Soc. Amer.— 1972.— **65**, N 12.— P. 1286—1289.

Oertel E. Metamorphosis of the honey bee // J. Morphol.— 1930.— **50**, N 2.— P. 295—339.

Philpott D. E. A rapid method for staining plastic-embedded tissues for light microscopy // Scientific Instruments.— 1966.— **11**, N 1. P. 11—12.

Snodgrass R. E. Insect metamorphosis // Smithson. mics. Collns.— 1954.— **122**, N 9.— P. 1—124.

Snodgrass R. E. Anatomy of the honey bee.— Ithaca; New Lork : Comstock Publ. Associat., 1956.— 334 p.

Venable J. H., Coggeshall R. E. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy // J. Cell Biol.— 1965.— **25**, N 5.— P. 407—408.

Wahmann E., Hennig A. Centrioles and development of the compound eye in Megachile rotundata F. (Hymenoptera, Apidae) // Z. Morphol. Tiere. — 1974. — **77**, N 4. — P. 337—344.

Казанский университет Получено 01.10.84

ЗАМЕТКИ

Новая находка закаспийской мышевидной сони (Miomimus personatus Ognev) на территории СССР: ♂, 30 км ю.-з. ст. Искандер у колодца Эйшем, предгорья хр. Карагез, 4.05.1983 (А. Писанец). Зверек добыт на участке сланцевой осыпи, поросшей отдельными кустами эйлении, солянок и парнолистника. Хранится в Зоологическом музее Института зоологии им. И. И. Шмальгаузена АН УССР (№ 10508/1). Размеры (в мм): L — 82; C — 51; Pl — 16; A — 16,5; кондилобазальная длина — 21,8; ширина мозговой камеры — 10,8; высота мозговой камеры — 8,6; скуловая ширина — 12,4; межглазничная ширина — 3,4; длина диастемы — 5,2; длина верхнего ряда зубов — 3,5; длина слухового барабана — 8,7. Находка расширяет ареал вида на 100—120 км к северу от известного.— **А. Е. Зыков** (Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена АН УССР, Киев).